| la meuf brune | 1. Pourquoi faire une RFLP? tout expliquer 2. on met quoi dans le gel 3. quelle partie de l’ADN on coupe? j’ai dis ou y a le site de restriction elle était pas satisfaite donc je lui ai demandé de réexpliquer (hésitez pas d’ailleurs parce qu’elle est pas précise dans ses questions) et du coup elle m’a dit tout le génome? j’ai dis non l’exon 4 et là c'était bon 4. À quoi sert le glycérol 5. si on change la quantité d’agarose ca fait quoi? 6. Tampon TBE composition ? j’ai dit tris, EDTA et acétate mais askip c’est faux pour l’acétate 7. ensuite elle m’a donné un profil sain et m’a dit qu’il y a une mutation qui fait disparaître un site de restriction donc a vous de trouver pour les autres profils si homoz/htz (ne vous loupez pas sur celle là, elle m’a dit que c’est ce qui permet d’avoir une bête de note)   Sinon prof hyper cool, elle vous met à l’aise elle est sympa ne cherche pas la petite bête et chronomètre exactement 5 min (on adore)!   1. Elle m'a donné des valeurs d'absorbance à 260 nm et 280 nm. Il faut calculer le ratio et elle demande si le résultat obtenu est bien( oui : si le ratio est compris entre 1,7 et 2,0 et non si c'est inférieur c'est qu'il y a une contamination protéique et supérieur c'est qu'il y a contamination par ARN. 2. Expliquer l'équation de beer lambert 3. Dans l'équation de Beer Lambert, epsilon représente quoi?( coef d'extinction). Il faut aussi parler de la largeur de la cuve qui est égale à 1 cm. Donc C= A260× epsilon × largeur de cuve × facteur de dilution. 4. Elle demande les valeurs approximatives de l'équation( valeur epsilon= 50 et le facteur de dilution était de combien. 5. Elle m'a demandé d'énumérer ce qu'on mettait pour la PCR. 6. Pourquoi mettre du MgCl2? 7. Quelle est la masse d'adn que l'on a introduite ? Quelle est la masse maximale d'ADN en PCR et pourquoi ? 8. La taq polymérase a quoi comme spécificités? 9. Quelles sont les températures pour la PCR? 10. Comment choisir la température d'hybridation? 11. Expliquer le principe de la chromatographie d'exclusion   Elle est sympa, te met à l'aise et t'explique si tu ne sais pas et lance un chronomètre de 5 minutes pour que ce soit équitable pour tout le monde!  Alors je ne me souviens pas de tout mais hyper sympa et plutôt dans l’optique du dialogue :   * Quel est l’objectif du TP ? Quelle est la maladie étudiée ? Pour quoi code le gène HFE ? Une protéine + dire à quoi elle sert. * Quelles sont les 2 méthodes du TP ? RFLP + Électrophorèse * Qu’est ce que tu utilises lors de la RFLP ? A quoi elle sert ? Elle te permet de voir quoi ? Expliquer le principe d’apparition/disparition de site de coupure et qui coupe, pourquoi... * A quoi sert l’électrophorèse ? Séparation des éléments ionisable en fonction de leur charge électrique et de leur encombrement moléculaire. Qu’est ce qu’il se passe en gros ? Voir des profils de migrations après une RFLP. Qu’est ce qui te permet de voir l’ADN ? (BET). * Elle a pas mal insisté sur la Rsa1 : de quoi a-t-elle besoin pour fonctionner ? Quelle est sa température idéale ? Qu’est ce qu’elle fait sur ton gène ? * De quoi est composé ton gel ? Agarose du coup. Et dans quoi tu le mets ? Dans le TBE. Comment faire varier la taille des réticulations du gel ? * Qu’est ce que tu mets dans ton puit ? * Quand tu observes ta RFLP combien tu as eu de fragments ? Connaître le nombre de paires de bases. * Quelles sont les principales protections à utiliser lors de ce TP : les gants pour éviter de contaminer la PCR et les gants+lunettes pour le BET. |
| --- | --- |
| trian (le surfeur, brice de Nice) | 1. qu’est ce qu’on met dans une PCR? (taq polymérase, les amorces, le tampon, le matrice d’adn à amplifier et les désoxynucléotides) 2. Pourquoi la Taq polymérase ? 3. Expliquer le cycle de la PCR, précisément (les températures, savoir exactement ce qu’il se passe à chaque étape, il peut demander de détailler) 4. Pour la pcr: si on amplifie x région 1 fois (donc 1 cycle) on obtient 2x ou x2^1 fragments 5. Calcul de la concentration (dire la formule et que c’est la loi de Beer Lambert) 6. Pour les ratios (A260/A280), dire que c’est pur quand c’est entre 1,7 et 2. 7. Dire les étapes de l’extraction de l’ ADN 8. Qu’est ce que le SDS ? (un détergent) 9. qu’est ce que la RFLP pourquoi on l’utilise dans le tp 10. A quoi sert le glycérol. 11. qu’est ce que l’on met dans le tampon pour l'électrophorèse ( glycérol, bromophénol…) 12. A quoi servent les colorants ? (visualiser l’avancée de la migration) 13. qu’est ce que l’on met dans l’adn pour observer: BET et ses caractéristiques + vision sous uv avec les protection. 14. A quoi sert la chromatographie. 15. Qu’est ce que je peux utiliser d’autre pour visualiser une mutation (: le sequencage )   questions nouvelles(je crois):doit-on obligatoirement faire une purification avant la RFLP? du coup c ‘est NON,la RFLP a été faite sur les produits de PCR non purifiés,on verra un truc moche qui aura migré très loin dans l’électrophorèse mais pas de conséquence sur l’interprétation  et aussi: dans quelle autre technique la purification est-elle obligatoire? c’est le CLONAGE  pour le reste,questions classiques du tp |
| Sevenet le sang ( GROUPE 2) | 1. Calcul avec ratio et détermination d’un volume en fonction de la quantité d’adn en ug/mL 2. Pourquoi la PCR est dans une autre salle ?  * car pollution de l’ancienne pcr qui peut servir de matrice a la nouvelle  1. La concentration optimale de MgCl2 en pcr ? 1,5 mM 2. Les constituants d’une pcr 3. Comment vérifier qu’on est pas contaminé ? => faire une pcr avec tous les ingrédients sauf la matrice d’adn du patient 4. Si vous choisissez Sevenet, soyez vraiment dans le détail et être capable de sortir des notions un peu hors du tp 5. Savoir définir les caractéristiques d’amorces, et la stringence avec la notion de spécificité. |
| Groupe 3 (les wati bg <3) | **Sevenet :** le prof est sympa et a une voix très rassurante (genre médecin) donc c’est pas forcément le tyran qu’on nous vend, il est juste pointilleux mais oklm)   1. **étapes d’extraction de l’ADN** 2. **Pourquoi Rnase à ce moment donné** (après lyse pour pouvoir rentrer dans le noyaux et avant précipitation protéine car Rnase = protéine donc on va s’en débarrasser facilement) 3. **De quoi est composé le tube dont on prélève le buffy coat** (plasma en haut et hématie en bas, buffy coat au milieu) 4. **On prélève quoi dans le buffy coat** (leucocyte) 5. **Parles moi de la maladie** (évitez d’avoir des pertes de mémoire du nom de la maladie c’est pas ouf) donc faire le détails de tout transition G→A, mutation C282Ydu gène HFE1 (oubliez pas le 1)... 6. **NOUVELLE QUESTION JAMAIS VU NUL PART EXCLUE MONDIALE** (j’ai le seum) : Tu peux me dire si la maladie touche beaucoup de monde ou pas ? (maladie fréquente dans les ‘’populations de race blanches’’ \*laugh in Jean-Marie Le Pen\*) 7. Il m’a demandé le **profil génétique de ta mère** la pute 8. il m’a parler de si c’était commun dans la population en gros (j’ai parlé du fait que c’était autosomal récessif et donc les gens le transmettre sans même le savoir car on ne test pas les porteurs sains pas sûr de ouf de ce que j’ai dit mais il avait pas l’air énervé donc ¯\\_(ツ)\_/¯) 9. il m’a demandé ce que je voulais faire plus tard à la fin (cherchez pas un rapport avec le tp comme moi) 10. Comment peut-on rendre une PCR plus spécifique ? stringence et amorce 11. On met quoi pour faire une PCR ? amorce, dntp, etc 12. Quel tampon met-on pour l’électrophorèse ? : il attendait le tampon de charge comme réponse 13. Que trouve t’on dans le tampon de charge ? 14. A quoi sert le glycérol ? 15. Si on veut séparer un fragment de 15 000 pb, quel est le pourcentage d’agarose ? 0,3% 16. Combien de nucléotides dans un brin haploïde ? 3\*10^9 pb 17. Du coup dans ton calcul de rendement ta multiplier par 2 pour avoir quelque chose de diploïde ? je trouvais que ça puait le piège et je lui est sorti tout le calcul     **Trian**: prof sympa pas prise de tête et l’oral dure pas plus de 5min (askip il note mal par contre)  1)il m’a demandé d’expliquer l'électrophorèse (question hyper globale j'ai bégayé) du coup il a embrayé sur le premier truc que j’ai dit  2)Il m’a demandé comment on voyait la migration de l’adn  3)il m’a fait un dessin avec un ladder de 50pb a chaque fois et m’a demandé le nb de PB de deux fragments (savoir que 50pb c’est celui qui migre le plus, à partir de là on compte)  4)citez les étapes d’extraction de l’ADN  5)c’est quoi le SDS (un détergent ptn)  6)il m’a fait calculer un ratio A260/A280 et m’a demandé ce que ca voulait dire  7)Comment on calcule la concentration de L’adn (loi de beer lambert) et dire la formule  8)fini |
|  | Sevenet (ça a pas duré longtemps du tout)   * étapes de la PCR * pleins de calculs : à partir de l’absorbance trouver la concentration et combien de mL on prend pour avoir 5ug d’ADN / combien d’ADN on aurait dans 5 uL etc plusieurs fois !! * comment on a déterminé la température de 60°C pour l’étape d’hybridation de la PCR (je savais pas) en mode pourquoi on a pas pris 50°C et il attendait pas la spécificité/stringence il voulait autre chose * m’a donné des rapports A260/A280 m’a demandé lequel on prend * Pour un volume de 10uL quelle micropipette on prend (y en avait 4 sur la table avec des volumes différents) |
| Groupe 4 | Trian :   * il m’a dessiné 2 fragments (un sauvage et un muté) avec des enzymes qui coupées ces fragments à certains endroits et il m’a demandé de dessiner les profils d'électrophorèse qu’on obtiendrait pour homozygote sain, muté et hétérozygote muté. * les étapes de l’extraction de l’ADN * comment on calculait la concentration d’ADN et comment s’appelait cette loi. * Comment on filtre l’ADN? * Il m’a donné 2 valeurs d’absorbance, je devais calculer le rapport et dire si c’était contaminé ou non |
| Groupe 6 | Trian:  1)Quel était le but du Tp?  2) Quelle était la mutation? pourquoi on a choisit de rechercher celle là?  3) Quel est le but d’une Pcr, expliquer les ≠ étapes  4)Que met on ds le tampon de charge, à quoi ca sert?(Edta(chélateur Ca2+-->protège l’adn des Dnase+glycerol-->augmente la densité ADN)  5)calcul de rapport A260/280  6) Loi de beerlambert, comment calculer C  7)A quoi servent les colorants ds le tampon de charge  8)Quelles étaient les 2 techniques utilisés dans le tp(Rflp/electrophorese)  9) Pourquoi peut on utiliser la technique RFLP  10)Qu’est ce qui permet de savoir spécifiquement ce qu’on a séquencé(les amorces)   1. Pourquoi on a pu faire une RFLP ? (car mutation faisait apparaitre un site de restriction) 2. Quelle autre technique on aurait pu faire (Sanger) 3. Qu’est ce qu’une PCR et quelles étapes ? 4. Pourquoi la Taq polymérase (car thermorésistante) 5. Quel était le but du TP 6. Quelle technique tu as utilisé pour purifier ton échantillon d’ADN (chromatographie de filtration sur gel) 7. Quel résultat as tu trouvé pour la mère (homozygote/hétéro), quels conséquences pour l’enfant ? 8. Ou mettons nous le bromure d’éthidium (dans le gel d’agarose)   La brune, lunette, rondouillette |